

# PATENT COOPERATION TREATY

From the  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

Mr. Mikio Hatta

Dia Palace Nibancho, 11-9, Nibancho,  
Chiyoda-ku, Tokyo 102-0084

**PCT**

## WRITTEN OPINION

(PCT Rule 66)

		Date of mailing (day/month/year) 17.04.01 (April 17, 2001)
Applicant's or agent's file reference F 2000-44-PCT		<b>REPLY DUE</b> within 2 month from the above date of mailing
International application No. PCT/JP00/03863	International filing date (day/month/year) 14.06.00 (June 14, 2000)	Priority date (day/month/year) 14.06.99 (June 14, 1999)
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC Int.Cl <sup>7</sup> C07K14/745, C07K17/14		
<b>Applicant</b> FUJIMORI KOGYO CO., LTD.		

1. This written opinion is the first (first, etc.) drawn by this International Preliminary Examining Authority.

2. This opinion contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

3. The applicant is hereby invited to reply to this opinion.

When? See the time limit indicated above. The applicant may, before the expiration of that time limit, request this Authority to grant an extension, see Rule 66.2(d).

How? By submitting a written reply, accompanied, where appropriate, by amendments, according to Rule 66.3.  
For the form and the language of the amendments, see Rules 66.8 and 66.9.

Also For an additional opportunity to submit amendments, see Rule 66.4.  
For the examiner's obligation to consider amendments and/or arguments, see Rule 66.4bis.  
For an informal communication with the examiner, see Rule 66.6.

If no reply is filed, the international preliminary examination report will be established on the basis of this opinion.

4. The final date by which the international preliminary examination report must be established according to Rule 69.2 is: 14.10.01 (October 14, 2001).

Name and mailing address of the IPEA/ JP 4-3, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915	Authorized officer Hajime Kamijo (4N 9839)
Facsimile No.	Telephone No. 03-3581-1101 (3488)

**WRITTEN OPINION**

International application No.

PCT/JP00/03863

**I. Basis of the opinion****1. With regard to the elements of the international application:\*** the international application as originally filed the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the claims:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement) under article 19

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the drawings:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

**2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.**

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3).**3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the written opinion was drawn on the basis of the sequence listing:** contained in the international application in printed form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.**4.  The amendments have resulted in the cancellation of:** the description, pages \_\_\_\_\_ the claims, Nos. \_\_\_\_\_ the drawings, sheet/fig \_\_\_\_\_**5.  This opinion has been drawn as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2 (c)).**

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this opinion as "originally filed".

**V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	4, 5, 7, 8	YES
	Claims	1 - 3, 6	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1 - 8	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

- (1) WO, 92/15686, A1 (ZYMOGENETICS, INC) September 17, 1992
- (2) Teissiere M. et al., "Purification and characterization of a fatty acyl-ester hydro from post-germinated sunflower seeds", Biochim. Biophys. Acta. (1995), Vol. 1255, No.2, p.105-112
- (3) Sugihara A. et al., "Purification and characterization of a carboxylesterase from Pseudomonas sp. KWI-56", Biosic. Biotechnol. Biochem (1994), Vol.58, No.4, p.752-755
- (4) K. Miura et al., "Protein engineering", Vol.1, Tetsugaku Shuppan KK, 1998, pp.127-128;
- (5) Kenneth E. et al., "The conversion of serine at the active site of subtilisin to cysteine: a chemical mutation", Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1966), Vol.56, No.5, p.1606-1611

**Claims 1 - 3 and 6**

Document 1 discloses activated blood coagulation factor VII modified by the introduction of mutation in activated coagulation factor VII at a site such as Ser<sup>344</sup>, which inhibits the blood clotting reaction, and indicates that modification of activated coagulation factors X and IX by mutation could probably have a similar effect.

**Claims 4, 5, 7 and 8**

Documents 2 to 5 show that the serine residue in proteases wherein a serine residue at the active site contributes directly to catalytic activity (serine proteases) shows particularly high reactivity, and that enzyme activity is lost if the serine residues in the enzyme protein are modified using an agent such as phenylmethylsulphonyl fluoride (PMSF).

Competitive inhibition by molecules which are structurally similar to a substrate and which bind reversibly to substrate binding sites was known at the priority date. Therefore, a person skilled in the art could easily conceive of applying the method for modifying Ser residues disclosed in Documents 2-5 for the modification of Ser residues of activated coagulation factor VII disclosed in Document 1, using said modified factor to cause competitive inhibition, and similar modification of Ser residues in coagulation factors IX and X as indicated in Document 1.

The advantageous effects of the inventions described in Claims 4, 5, 7 and 8 in the present application are also such as could be expected by a person skilled in the art.

## 特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

## 出願人代理人

八田 幹雄

あて名

〒 102-0084

東京都千代田区二番町11番地9  
二番町

PCT見解書

(法第13条)  
[PCT規則66]発送日  
(日.月.年)

17.04.01

応答期間

上記発送日から 2 月 以内

## 出願人又は代理人

の書類記号 F 2000-44-PCT

国際出願番号

PCT/JPOO/03863

国際出願日

(日.月.年) 14.06.00

優先日

(日.月.年) 14.06.99

## 国際特許分類 (IPC)

Int. Cl' C07K14/745, C07K17/14

## 出願人 (氏名又は名称)

藤森工業株式会社

- これは、この国際予備審査機関が作成した 1 回目の見解書である。
- この見解書は、次の内容を含む。
  - I  見解の基礎
  - II  優先権
  - III  新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
  - IV  発明の単一性の欠如
  - V  法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
  - VI  ある種の引用文献
  - VII  国際出願の不備
  - VIII  国際出願に対する意見
- 出願人は、この見解書に応答することが求められる。
 

いつ? 上記応答期間を参照すること。この応答期間に間に合わないときは、出願人は、法第13条 (PCT規則66.2(d)) に規定するとおり、その期間の経過前に国際予備審査機関に期間延長を請求することができる。ただし、期間延長が認められるのは合理的な理由があり、かつスケジュールに余裕がある場合に限られることに注意されたい。

どのように? 法第13条 (PCT規則66.3) の規定に従い、答弁書及び必要な場合には、補正書を提出する。補正書の様式及び言語については、法施行規則第62条 (PCT規則66.8及び66.9) を参照すること。

なお 補正書を提出する追加の機会については、法施行規則第61条の2 (PCT規則66.4) を参照すること。補正書及び/又は答弁書の審査官による考慮については、PCT規則66.4の2を参照すること。審査官との非公式の連絡については、PCT規則66.6を参照すること。

応答がないときは、国際予備審査報告は、この見解書に基づき作成される。
- 国際予備審査報告作成の最終期限は、PCT規則69.2の規定により 14.10.01 である。

名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 上條 肇	4N 9839
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		

## I. 見解の基礎

1. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この見解書において「出願時」とする。)

出願時の国際出願書類

<input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ ページ、	出願時に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ ページ、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ ページ、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ 項、	出願時に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ 項、	PCT19条の規定に基づき補正されたもの
<input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ 項、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ 項、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 図面 第 _____ ページ/図、	出願時に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 図面 第 _____ ページ/図、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 図面 第 _____ ページ/図、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、	出願時に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、	付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
 PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき見解書を作成した。

この国際出願に含まれる書面による配列表  
 この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5.  この見解書は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

## 新規性 (N)

請求の範囲	4, 5, 7, 8	有
請求の範囲	1-3, 6	無

## 進歩性 (I-S)

請求の範囲		有
請求の範囲	1-8	無

## 産業上の利用可能性 (I-A)

請求の範囲	1-8	有
請求の範囲		無

## 2. 文献及び説明

引用文献1 : WO, 92/15686, A1 (ZYMOGENETICS, INC.) 17. 9月. 1992 (17. 09. 92)

引用文献2 : Teissere M., et. al., "Purification and characterization of a fatty acyl-ester hydro from post-germinated sunflower seeds.", Biochem. Biophys. Acta. (1995), Vol. 1255, No. 2, p. 105-112

引用文献3 : Sugihara A., et. al., "Purification and characterization of a carboxylesterase from Pseudomonas sp. KWI-56.", Biosic. Biotechnol. Biochem. (1994), Vol. 58, No. 4, p. 752-755

引用文献4 : 三浦 謹一郎, 大島泰郎, 渡辺公綱 編・著者, "タンパク質工学", 第1刷, 哲学出版株式会社, 1998, p. 127-128

引用文献5 : Kenneth E. et. al., "The conversion of serine at the active site of subtilisin to cysteine:a chemical mutation", Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1966), Vol. 56, No. 5, p. 1606-1611

## 【請求項1-3, 6】

引用文献1には、活性化血液凝固因子VIIの344番目Ser等に変異を導入した修飾活性化血液凝固因子VIIが、血液凝固反応を阻害する旨、他の活性化血液凝固因子X、IX、に変異修飾することにより、同様な効果を得ることができるだろう旨、記載されている。

## 【請求項4、5、7、8】

引用文献2乃至5には、活性部位に触媒活性に直接関与するセリン残基をもつプロテアーゼ(セリンプロテアーゼ)のセリン残基は特に高い反応性を有しており、酵素タンパク質のSer残基を、フェニルメチルスルホニルフルオライド (PMSF) 等により修飾すると、酵素活性が失活する旨、記載されている。

基質分子と構造が類似した分子が基質結合部位に可逆的に結合する競合阻害とは、優先日当時、周知技術であったことから、引用文献1に記載される活性化血液凝固因子VIIのSer残基の変異修飾において、引用文献2乃至5に記載されるSer修飾方法を適用すること、該修飾因子を競争阻害させること、引用文献1で示唆されている因子IX, Xについても同様にSer修飾することは、当業者が容易に想到しうるものであると認められる。

また、本願請求項4、5、7、8に係る発明の効果も、当業者が予測しうるものであると認められる。